

Title	Preparation of Functionalized Antibodies
Author(s)	山口, 浩靖
Citation	
Issue Date	
oaire:version	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3143786
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	山 口 浩 靖
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 3 6 7 2 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子学専攻
学位論文名	“Preparation of Functionalized Antibodies ” (機能性抗体の作製)
論文審査委員	(主査) 教授 蒲池 幹治 (副査) 教授 中村 晃 教授 森島洋太郎 教授 足立桂一郎 助教授 原田 明

論 文 内 容 の 要 旨

抗体は生体内では免疫機能を担う重要な分子であるが、その多様性、特異性ゆえに本来の機能の上にさらに別の機能を付与させた新たな高分子としての利用が期待できる。本研究では触媒機能のみならず新たな機能を有する抗体(機能性抗体)を作り出すことを目的として、生体内外で重要な役割を果たしているポルフィリンに対するモノクローナル抗体を作製した。

その際の抗原決定基としてテトラカルボキシフェニルポルフィリン(TCPP)および軸配位子を有するリンテトラフェニルポルフィリン(P(V)TPP)を用いた。TCPPに対するモノクローナル抗体2種類(03-1, 13-1)、P(V)TPPに対するモノクローナル抗体1種類(74D7A)を選び、それらの抗体-ポルフィリン錯体の機能を検討した。

触媒機能-基質特異的ペルオキシダーゼ活性-

抗体03-1はマンガンおよび鉄ポルフィリンと錯体を形成し、酵素ペルオキシダーゼの基質であるピロガロールを選択的に酸化する触媒となることがわかった。この特異性は抗体がポルフィリンに結合することにより発現された。またこの抗体-鉄ポルフィリン錯体は高濃度の過酸化水素存在下、天然酵素ペルオキシダーゼと同等の初期速度を持ってピロガロールの酸化反応を触媒することがわかった。

光化学的機能-光誘起電子移動反応制御-

TCPPに対して得られた2種類のモノクローナル抗体ではポルフィリンとの親和性が同一でありながら、それらの抗体-ポルフィリンではポルフィリンの光化学的挙動が全く異なることがわかった。Zn-TCPPと抗体との錯体に電子アクセプターであるメチルビオロゲンを追加すると抗体03-1存在下ではポルフィリンからメチルビオロゲンへの電子移動が抑制されるのに対して、抗体13-1では逆に促進された。

抗体74D7Aはポルフィリンとともに軸配位子の部分構造をもつ分子を同時に結合可能であることがわかった。ポルフィリン-抗体錯体に対してテレフタル酸が特異的に結合した。この特異的結合によりポルフィリンの蛍光を消光することが明らかになった。

ポルフィリンを介した抗体の超分子形成

抗体03-1は種々の分光測定からポルフィリン1分子に対して抗体が2分子結合することが示唆された。この高次構造の存在を明らかにするために、表面プラズモン共鳴法を利用したバイオセンサーにより抗体-ポルフィリン間相互作用を観測した。抗体を固定化したバイオセンサーのセンサーチップにTCPP、抗体を順に繰り返し添加すること

により段階的な超分子構造が構築されることがわかった。

さらにポルフィリンダイマーを合成し、二官能性分子である抗体とポルフィリンダイマーとの混合物を原子間力顕微鏡により観察した。その結果、抗体とポルフィリンの非共有結合を介した超分子構造の存在が明らかになった。

本研究において、抗体-ポルフィリン錯体が酸化反応触媒機能をもつこと、ポルフィリンから電子アクセプターへの電子移動が抗体の種類により異なることを見出した。そして基質選択性を高めるため、基質を選択的に取り込むことのできる空間を抗体の結合部位に導入することに成功した。またポルフィリンと抗体から成る超分子形成の観測、超分子構造の直接観察に成功した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、生体系を利用する高分子合成として抗原抗体反応に注目し、免疫反応を利用してテトラカルボキシフェニルポルフィリン(TCPP)および軸配位子を有するリンテトラフェニルポルフィリン(P(V)TPP) に対するモノクローナル抗体を量産することに成功した。その抗体の構造を決定し、そのポルフィリン誘導体にたいする特異性を触媒機能や光化学的機能において見出すと共に、さらに超分子の設計に展開した独創性のある研究であり、博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。